

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 15 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592918

研究課題名(和文) 高付加型ポリリン酸を用いたインプラント周囲炎骨欠損に対する再生療法

研究課題名(英文) Inorganic polyphosphate adsorbed onto hydroxyapatite for guided bone regeneration of implantitis

研究代表者

土井 一矢(DOI, KAZUYA)

広島大学・大学院医歯薬保健学研究院・助教

研究者番号：80444686

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：インプラント周囲炎に対する骨再生療法として高付加型ポリリン酸を用いた治療法の開発を行った。鎖長構造300のポリリン酸は細菌付着させた汚染チタンプレート上の改質に有用であった。またLPS添加による炎症性マクロファージ試験において、ポリリン酸は抗炎症マーカーである一酸化窒素発現を抑制した。動物実験ではインプラント周囲骨欠損部位にポリリン酸を吸着させた人工骨を骨移植材として適応したところ骨再生を促進させた。これらよりインプラント周囲炎に対する高付加型ポリリン酸を用いた再生療法の有用性を明らかとした。

研究成果の概要(英文)：The development of a bone regeneration therapy using a long chain length inorganic polyphosphates for implantitis. Long chain;300 polyphosphate was improved the contaminated titanium plate. Also, in inflammatory macrophage test by LPS addition, polyphosphoric inhibited nitric oxide expression. In animal study, inorganic polyphosphate adsorbed onto hydroxyapatite promote bone regeneration on fenestrated bonedefect around implant.

研究分野：歯科補綴

キーワード：インプラント周囲炎 ポリリン酸 人工骨

1. 研究開始当初の背景

インプラント治療の合併症として 20%以上に生物学的問題としてのインプラント周囲炎(インプラント周囲粘膜炎とインプラント周囲炎)が発症することが報告されている。インプラントの適用が拡大してきている現在、インプラント周囲炎によりインプラント周囲の骨吸収が惹起され、最悪のケースではオッセオインテグレーションが喪失してインプラント体が脱落するなど、この問題は今後さらに深刻になっていく。インプラント周囲炎ではインプラント表表面のデブライメントが最優先されるが、実際はなかなか困難であり、また、露出したインプラント体表面に対する表面処理も天然歯根では有効なリン酸処理や EDTA 処理が、チタン表面では組成変化の懸念があるため用いにくい。したがって、現在ではリステリンやクロルヘキシジンによる薬物洗浄と局所の抗菌剤投与の消炎処置にとどまっており、インプラント周囲炎の根本的な治療法は確立されていない。さらに、インプラント周囲炎により惹起された骨吸収部の再生も困難な問題となっている。これらの問題を解決するため、ポリリン酸を用いたインプラント周囲炎骨欠損に対する再生療法を着想した。

2. 研究の目的

インプラント周囲炎による骨欠損に対する予知性の高い治療法の確立には、汚染されたインプラント体表面の改善、骨欠損となった部位への人工骨による骨再生療法、この2つのアプローチに着目した。ポリリン酸は鎖長構造の違いにより抗菌性(鎖長 300)や骨形成促進作用(鎖長 60)を示すことが明らかとなっている。そこで本研究では、ポリリン酸による感染インプラント表面を改善するための表面処理とポリリン酸結合人工骨による GBR 行い、その有効性を評価・検討することにより、インプラント

周囲炎に対する「高付加型ポリリン酸を用いた骨再生療法」の確立を目指した。

3. 研究の方法

まず、汚染インプラント表面に対する効果的な表面処理法の検討を行った。実験材料として、チタンプレート;直径 13 mm,高さ 1 mm, 機械研磨処理 陽極酸化処理, 細菌株: Actinobacillus actinomycetemcomitans, 表面処理材; 25%ポリリン酸ジェル(鎖長 300:リ), リン酸ジェル(35%濃度), 生理的食塩水を用いた。各チタンプレート上に細菌を播種

(1×10^8 /ml), 4 時間の静置培養を行った後、各チタンプレート表面に化学的処理としてポリリン酸 リン酸 生理的食塩水の各液に 5 分浸漬した。浸漬後、超純水により洗浄した。処理後の評価として SEM による表面構造および細菌残存状態を観察した。次にポリリン酸の抗炎症性効果を確認するため一酸化窒素発現抑制の評価を行った。マクロファージに LPS を添加し抗炎症性モデルを作成した。この培養細胞に対して各濃度のポリリン酸を添加し、一酸化窒素発現の測定を行った。

最終評価として動物実験としてインプラント周囲炎骨欠損モデル動物に対して、ポリリン酸吸着人工骨、連通多孔性アパタイト(IP-CHA)を埋入し、非吸収メンブレンにて被覆した。その 12 週後、組織ブロックを採取、評価法として組織学的観察: 骨欠損周囲のオッセオインテグレーションの様相を光顕的に観察および組織形態計測学的評価法: 骨接触率および再生骨骨高径率を測定した。

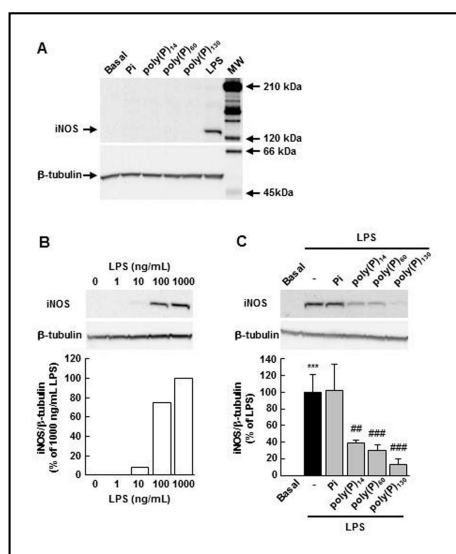
4. 研究成果

汚染チタンプレートの改質試験において、リン酸処理、ポリリン酸処理、生食水処理、の順に細菌残留度は少ない傾向を示した。また、

SEMの観察において、リン酸およびポリリン酸処理群はチタン表面においての細菌残留は少ない傾向にあった。

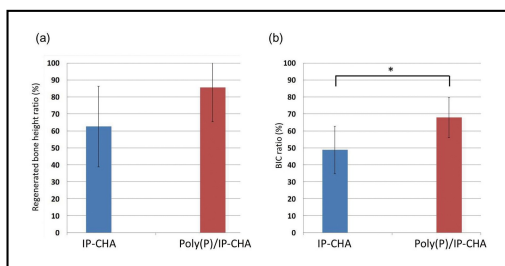
次に一酸化窒素発現による抗炎症性試験の結果では、ポリリン酸の濃度依存的にLPS添加によるマクロファージの一酸化窒素の発現は抑制された。これにより *in vitro* においてポリリン酸が抗炎症性物質として有用であることが明らかとなった。インプラント周囲骨欠損部におけるポリリン酸吸着人工骨を用いた骨再生療法では、コントロールに対して多くの骨新生を達成できており、*in vivo* での有用性を確認した。

ポリリン酸による炎症性マーカーiNOS測定 (業績文献)



炎症性マーカーである一酸化窒素の発現はポリリン酸濃度に依存して抑制効果を示し、抗炎症性作用を示していた。

動物実験結果 (業績文献)



骨インプラント接触率の結果

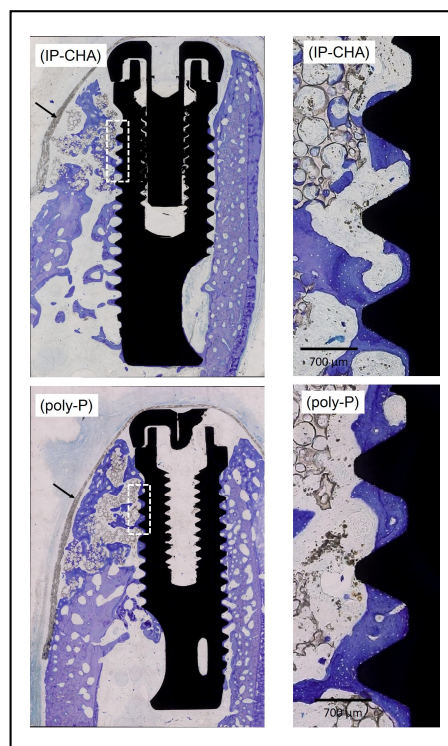
(a) 再生骨高径率；

ポリリン酸吸着人工骨はコントロール群と比較して高い傾向にあったが有意差は認められなかった。

(b) 骨インプラント接触率；

ポリリン酸吸着人工骨はコントロール群と比較して有意に高かった。

組織学的観察



新生骨の形成は両群で観察された。インプラントスレッド表面において、ポリリン酸吸着人工骨群は多くの新生骨が観察されていた。

これらの結果より高付加型（長鎖型）ポリリン酸の抗炎症作用を解明し、インプラント周囲骨欠損における骨再生療法に用いる材料として有用であることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

Inorganic polyphosphate adsorbed onto hydroxyapatite for guided bone regeneration: an animal study. Doi K, Kubo T, Takeshita R, Kajihara S, Kato S, Kawazoe Y, Shiba T, Akagawa Y. Dent Mater J. (査読有) 33:179-186.

2014, <http://doi.org/10.4012/dmj.2013-2>

Inorganic polyphosphate suppresses hypopolysaccharide-induced inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression in macrophages. Harada K, Shiba T, Doi K, Morita K, Kubo T, Makihara Y, Piattelli A, Akagawa Y. PLoS One (査読有) 8:e74650, 2013. doi:10.1371/journal.pone.0074650

ポリリン酸吸着人工骨の開発：土井一矢：日本補綴歯科学会誌，(査読有) 5，417-419，2013

〔学会発表〕(計 3 件)

森田晃司，ポリリン酸のヒドロキシブレートに対する表面処理および骨芽細胞分化促進の評価，第 64 回日本歯科理工学会，2014 年 10 月 4 日，広島国際会議場（広島）

土井一矢，補綴治療の向上に貢献する十分に検証された既存の技術をハイブリッドさせたバイオマテリアルの創生，第 122 回補綴歯科学会学術大会，2013 年 5 月 18 日，福岡国際会議場（福岡）

原田佳奈，炎症病態に対するポリリン酸の効果とインプラント周囲炎治療への応用の可能性，第 42 回口腔インプラント学会，2012 年 9 月 19 日，大阪国際会議場（大阪）

6．研究組織

(1)研究代表者

土井 一矢 (DOI, Kazuya)

広島大学・大学院医歯薬保健学研究院・助教

研究者番号：80444686

(2)研究分担者

森田 晃司 (MORITA, Koji)

広島大学・病院・助教

研究者番号：30555149

呉本 晃一 (KUREMOTO, Koichi)

広島大学・大学院医歯薬保健学研究院・助教

研究者番号：90319583